

Formulaire de stage

Parcours M2 GGBS 2022-2023

Laboratoire : Unité en Sciences Biologiques et Biotechnologies (US2B) - CNRS UMR 6286
Nantes Université - Faculté des Sciences et Techniques, Bâtiment 9
2 rue de la Houssinière - B.P. 92208 F44322 NANTES CEDEX 3
<https://us2b.univ-nantes.fr/>

Equipe : n°5, Épigenétique des Microalgues et Interactions avec l'environnement

Nom-Prénom de l'encadrant : Duc Céline. **Courriel de l'encadrant** : Celine.Duc@univ-nantes.fr

Titre du stage : Caractérisation fonctionnelle de la chaperonne d'histones CAF1A par l'approche CRISPR-Cas9 chez l'espèce modèle *Phaeodactylum tricornutum*

Résumé du projet proposé :

L'information épigénétique est portée par la chromatine constituée de protéines, les histones, autour desquelles s'enroule l'ADN. Le maintien de l'épigénome au cours du cycle cellulaire est permis par de nombreux mécanismes dont la compréhension est encore parcellaire. L'utilisation des cellules synchronisées de la diatomée *Phaeodactylum tricornutum* combinée avec l'outil CRISPR-Cas9 est une approche de pointe qui permettra l'analyse de la dynamique des composants de l'épigénome. Des résultats préliminaires au laboratoire ont montré que tous les acteurs impliqués dans le maintien de l'épigénome sont présents et fortement conservés chez cette diatomée et un protocole de transgénèse par conjugaison bactérienne a été mis au point. Le projet vise à étudier le maintien de l'épigénome et plus spécifiquement des histones H3 au cours du cycle cellulaire. Des lignées perte-de-fonction pour la chaperonne d'H3 CAF1A seront produites par CRISPR-Cas9 au cours du stage afin d'évaluer les effets de la perte de CAF1A sur l'épigénome pendant le cycle cellulaire. Une approche quantitative CUT&RUN associée à du séquençage permettra de dévoiler comment évolue l'épigénome au niveau des histones H3. Ce projet fait l'objet d'un financement Etoiles Montantes par la région Pays de la Loire, dont l'encadrante est porteuse.

Grandes étapes du stage de Master 2 et techniques mises en œuvre :

1. Clonage des ARNs guides dans le plasmide épisomal pour l'approche CRISPR-Cas9.
2. Transformation et sélection de bactéries produisant les plasmides épisomal et de conjugaison.
3. Conjugaison bactérienne de la diatomée *Phaeodactylum tricornutum*.
4. Sélection et génotypage des transformants.
5. Validation de la perte d'expression de la chaperonne CAF1A dans les lignées perte-de-fonction générées.
6. Mesure de l'expression des gènes H3 au cours du cycle cellulaire dans les lignées perte-de-fonction CAF1A.
7. Analyse par Western blot de l'abondance des histones H3 au cours du cycle cellulaire dans les lignées perte-de-fonction CAF1A.
8. Analyse par CUT&RUN suivi d'un séquençage NGS sera réalisée afin d'évaluer les effets de la perte de l'activité de CAF1A sur l'abondance et la localisation des histones H3 à l'échelle nucléosomale.